

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) **公開特許公報 (A)**

(11)特許出願公開番号

特開平6-271597

(43)公開日 平成6年(1994)9月27日

(51)Int.Cl.⁵

C 07 H 15/08

A 61 K 9/127

B 01 J 13/02

C 07 H 15/04

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

F 7329-4C

D

6345-4G

B 01 J 13/ 02

Z

審査請求 有 請求項の数 2 O L (全 15 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号

特願平5-58604

(71)出願人 390031462

株式会社ディ・ディ・エス研究所
東京都渋谷区渋谷2丁目17番5号

(22)出願日

平成5年(1993)3月18日

(72)発明者 佐々木 淳

茨城県つくば市春日4-19-13

(72)発明者 村橋 直一

茨城県北相馬郡守谷町松前台7-2-4

(74)代理人 弁理士 川口 義雄 (外2名)

(54)【発明の名称】 リン脂質及びリポソーム

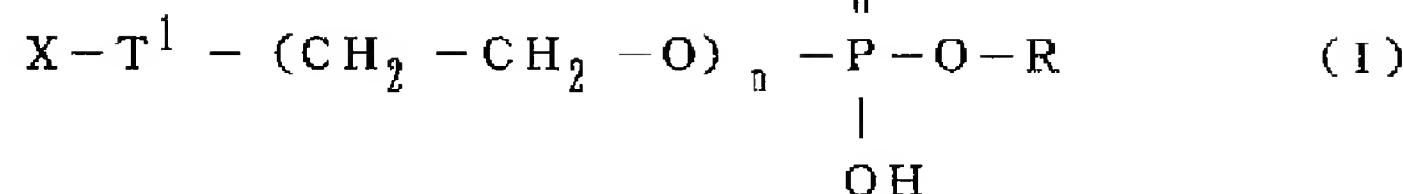
(57)【要約】

【目的】 薬剤キャリアーとして期待されるリポソームに所定の臓器への指向性を付与できるようなリポソームの修飾物質及びこのような物質により修飾されたリポソームの開発提供。

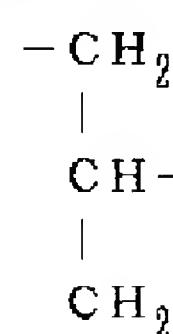
【構成】 (ポリ)エチレンレグリコールを介して单糖(誘導体)またはこれを構成糖とするオリゴ糖とリン酸の脂質エステルとが結合した構造の新規化合物(リン脂質)、及びこれを含有させたリポソーム。

【特許請求の範囲】

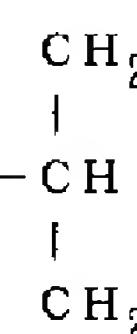
【請求項1】 下記一般式(I)で表されるリン脂質。



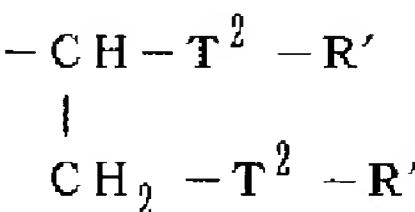
上記式中、Xは、グルコース、デオキシグルコース、マノース、ガラクトース、フコース、リボース、デオキシリボース、ラムノース、キシロース、アラビノース、エリスロース、シアル酸、ウロン酸及びヘキソサミンのいずれかの单糖、これらの单糖のOーもしくはNーアシル誘導体、カルボキシアルキル誘導体を含むOーアルキル誘導体及びリン酸もしくは硫酸エステルのいずれかの单糖誘導体、またはこれら单糖及び/または单糖誘導体を構成糖とするオリゴ糖であり、



(イ)



(ロ)



(ハ)

これらの残基において、-T²-は-O-、-NHC-、-OCNH-、-OC(O)-、-(O)CO-、-NHCOO-、-OOCNH-、-NHCONH-または-CH₂-であり、そしてR'は炭素原子数12~20の直鎖アルキル基であり、

そして、nは1~8の整数である。

【請求項2】 上記一般式(I)で表されるリン脂質を含有することを特徴とするリポソーム。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、薬剤キャリアーとしての用途が期待されるリポソームを修飾してリポソームに所定の臓器への指向性を付与できるようなリン脂質及びこのようなリン脂質により修飾された臓器指向性を有するリポソームに関する。

【0002】

【従来技術及び問題点】 リポソームは、例えば、野島他編「リポソーム」(南江堂)に述べられているように薬物を投与するときのキャリアーとして期待されている。このようなリポソームが所望の臓器に優先的に移行するように即ち臓器指向性を有するように改良すべく種々の試みがなされているが、何れも充分満足できる結果が得られていない。

【0003】 本発明者は、リポソームを修飾して臓器指向性を付与するに必要なホーミング・デバイスあるいは臓器認識素子として、糖に注目して研究を行ってきた。しかし、糖を臓器認識素子として使用するとき、よく知

【化1】

-T¹-は-O-、-NHC-、-OCNH-、-OC(O)-、-(O)CO-、-NHCOO-、-OOCNH-、-NHCONH-または-NHCOO-であり、Rは、コレステロール残基、炭素原子数12~20の直鎖アルカノール残基、下記プロパノール誘導体残基(イ)もしくは(ロ)、または下記エタノール誘導体残基(ハ)であり、

【化2】

これらの残基において、-T²-は-O-、-NHC-、-OCNH-、-OC(O)-、-(O)CO-、-NHCOO-、-OOCNH-、-NHCONH-または-CH₂-であり、そしてR'は炭素原子数12~20の直鎖アルキル基であり、

られているようにリポソームを修飾するためにその脂質誘導体とする必要があるが、糖の脂質誘導体は、ある場合にはリポソームを安定して修飾できなく、またある場合にはリポソームを安定して修飾できても糖が臓器認識素子として機能しないことがある。

【0004】

【課題を解決するための手段】 このような従来技術の背景下において、本発明者は種々の検討を行った結果、分子中に脂溶性の基を有するリン酸エステルにエチレンギリコールまたはポリエチレンギリコールを挟んで糖を導入すれば、糖の種類を問わずリポソームを安定して修飾できる脂質誘導体が得られかつ各種糖が所期の臓器認識素子として機能することを知り、このような知見に基いて本発明を完成した。因みに、従来、リポソームを調製あるいは修飾するためにジアシルグリセロールリン酸またはその誘導体が用いられていたが、本発明の化合物が本発明の用途で用いることは知られていない。

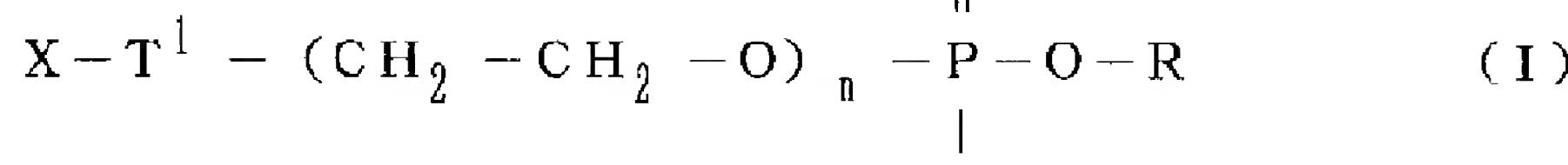
【0005】 すなわち、本発明は臓器認識素子として糖を有する、新規なリン脂質、及びこのようなリン脂質により修飾された臓器指向性が付与されたリポソームに関する。

【0006】 以下、本発明について逐次詳細に説明する。

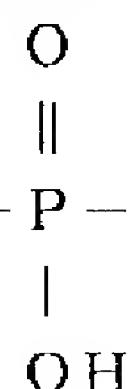
【0007】 第1に、本発明の新規なリン脂質について説明する。

【0008】 本発明のリン脂質は、下記一般式(I)で表される。

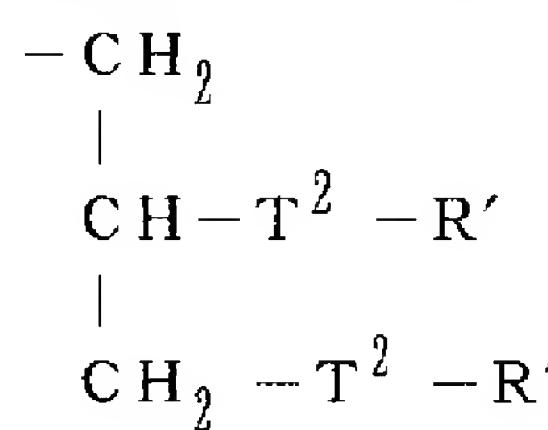
【0009】



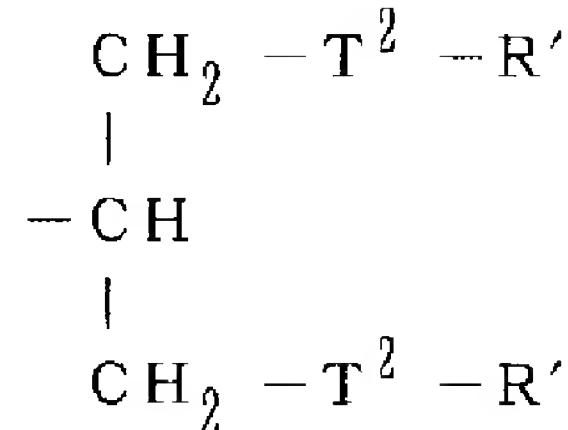
【化3】



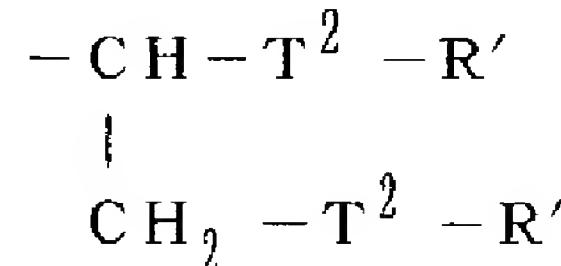
【0010】上記式中、Xは、グルコース、デオキシグルコース、マンノース、ガラクトース、フコース、リボース、デオキシリボース、ラムノース、キシロース、アラビノース、エリスロース、シアル酸、ウロン酸及びヘキソサミンのいずれかの单糖、これらの单糖のO-もししくはN-アシル誘導体、カルボキシアルキル誘導体を含むO-アルキル誘導体及びリン酸もしくは硫酸エステルのいずれかの单糖誘導体、またはこれら单糖及び/または单糖誘導体を構成糖とするオリゴ糖であり、-T¹-



(イ)



(ロ)

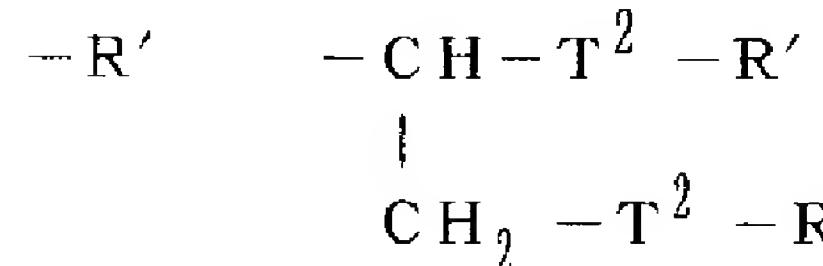


(ハ)

は-O-、-NHCO-、-OCNH-、-OC(O)-、-(O)CO-、-NHCOO-、-OOCNH-、または-NHCONH-であり、Rは、コレステロール残基、炭素原子数12~20の直鎖アルカノール残基、下記プロパノール誘導体残基(イ)もしくは(ロ)、または下記エタノール誘導体残基(ハ)であり、

【0011】

【化4】



うなエステル結合を得る方法もまたよく知られている方法が適用できる。单糖または单糖誘導体を構成糖とするオリゴ糖は、单糖及び/または单糖誘導体の、好ましくは2~4個から構成されるものであり、末端の糖は、そのアノマー位の水酸基が2番目の糖の何れかの水酸基と α または β 結合している。

【0017】T¹がエーテル結合または糖側の水酸基とのエステル結合もしくはウレタン結合であるときは、糖側の水酸基は何れでもよいが、エーテル結合であるときはアノマー位の水酸基が合成反応が容易である。このようなエーテル結合、ウレタン結合またはエステル結合もまた常法で得ることができる。

【0018】T¹が糖のカルボキシル基との酸アミド結合またはエステル結合であるときのカルボキシル基は、シアル酸、ウロン酸または单糖のカルボキシアシル化誘導体のカルボキシル基である。これら酸アミド結合及びエステル結合反応は、通常の方法でよい。

【0019】T¹が糖のアミノ基との酸アミド結合、ウレタン結合またはウレア結合であるときのアミノ基は、ヘキソサミンのアミノ基が通常用いられるが、单糖のアシルまたはアルキル誘導体のアシル基またはアルキル基の水素原子の1個がアミノ基に置換していてそのアミノ基であってもよい。このような酸アミド結合、ウレタン結合及びウレア結合も通常の反応を用いて得られる。

【0020】式(I)における-(CH₂-CH₂-

【0012】これらの残基において、-T²-は、-O-、-NHCO-、-OCNH-、-OC(O)-、-(O)CO-、-NHCOO-、-OOCNH-、-NHCONH-または-CH₂-であり、そしてR'は炭素原子数12~20の直鎖アルキル基であり、そして、nは1~8の整数である。

【0013】上記式におけるXとしての、ウロン酸としては、ガラクトロン酸、グルクロン酸、マンスロン酸等を挙げることができ、そしてヘキソサミンとしては、グルコサミン、マンノサミン、ガラクトサミン等を挙げることができる。

【0014】单糖のO-またはN-アシル誘導体のアシル基の炭素原子数は1~4が好ましい。このようなアシル誘導体は、1-メチルグルコース、N-アセチルマンノサミン等天然に存在するものが知られているが、单糖を常法によりアシル化して得ることもできる。

【0015】单糖のO-アルキル誘導体のアルキル基の炭素原子数は1~4が好ましい。O-アルキル誘導体にはカルボキシアルキル誘導体も含まれる。单糖よりこのようなO-アルキル誘導体を得る方法としては、特別な方法を要しない。

【0016】单糖のリン酸または硫酸エステルは、シアル酸、ウロン酸またはカルボキシアシル化された单糖のカルボキシル基にリン酸または硫酸をエステル結合をさせることにより導入することにより得られる。このよ

$\text{O})_n$ ーの部分をスペーサーと称し、 T^1 について更に詳しく述べる。

【0021】糖とスペーサーとの結合が酸アミド結合である場合、原料化合物を、脱水縮合条件下、具体的には反応に関与しない溶媒（例えばアセトニトリル、ジメチルホルムアミド、塩化メチレン、塩化エチレン）中で、適当な触媒（例えば、N-ヒドロキシスクシンイミド、N, N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール）の存在下、0°C～室温の反応温度で1～24時間反応させて得ることができる。

【0022】また、結合がエステル結合である場合、原料化合物を、脱水縮合条件下、具体的には反応に関与しない溶媒（例えばアセトニトリル、ジメチルホルムアミド、塩化メチレン、塩化エチレン）中で、適当な触媒（例えば、N-ヒドロキシスクシンイミド、N, N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール）の存在下、0°C～室温の反応温度で1～24時間反応させて得ることができる。

【0023】さらに、結合がエーテル結合である場合、糖の水酸基とスペーサーの水酸基のいずれか一方がハロゲン原子に置換またはトシリ化されたものを反応に関与しない溶媒（例えばジメチルホルムアミド、テトラヒドロフラン）中で、室温～100°Cの反応温度で1～48時間反応させて得ることができる。

【0024】さらにまた、結合がウレタン結合である場合、原料化合物のアミノ基と他の原料化合物の水酸基を常法（例えば1, 1-カルボニルジイミダゾールで処理する）に従いクロロホルミル化体としたものを反応に関与しない溶媒（例えばエーテル、テトラヒドロフラン、1, 4-ジオキサン）中で、適当な触媒（例えば、トリエチルアミン、炭酸水素ナトリウムなどの塩基）の存在下、0°C～室温の反応温度で0.5～24時間反応させて得ることができる。

【0025】さらにまた、結合がウレア結合である場合、原料化合物のアミノ基と他の原料化合物のアミノ基を常法（例えばホスゲンで処理する）に従いイソシアナート化したものとを、反応に関与しない溶媒（例えばエーテル、テトラヒドロフラン、ベンゼン、トルエン、エタノール）の存在下、室温～100°Cの反応温度で1～24時間反応させて得ることができる。

【0026】 T^1 がグリコシド結合であるときについて更に詳細に述べる。即ち、このような結合は、(a) 糖のアノマー位の水酸基がハロゲンで置換されたハロゲン化糖とスペーサーの水酸基とを、反応に関与しない溶媒（例えば、ジクロロエタン、塩化メチレン、ベンゼン、トルエン）中で、活性化剤（銀シリケート、炭酸銀、過塩素酸銀、銀トリフルオロメタンスルフォネートなどの銀塩、酸化水銀などの水銀塩、すず塩）の存在下にて反応させることによって得ることができる。なお、ブロム化糖は、水酸基がアセチル化された糖を臭化水素／酢酸

で処理することによって、またフッ化糖はアノマー位の水酸基が無保護の糖をジエチルアミノスルファートリフルオロライドで処理することによって得ることができる。

【0027】また、(b) 水酸基がアシル化された糖とスペーサー（水酸基を有するもの）とを、反応に関与しない溶媒（例えば塩化メチレン、ジクロロエタン）中で、酸触媒（例えば、三フッ化ホウ素・ジエチルエーテル錯体($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$)、トリメチルシリルトリフルオロメタンスルフォネート(TM SOTf)、ピリジウムパラトルエンスルホン酸(PPTS)など）の存在下、反応させることによって得ることができる。

【0028】さらに、(c) 糖のアノマー位の水酸基が無保護の糖を、1, 8-ジアザビシクロ(5, 4, 0)-7-ウンデセン(DBU)、炭酸カリウムなどの塩基と、トリクロロアセトニトリルとで処理して、イミデートとした後、酸触媒（例えば、 $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ 、 TM SOTf 、 PPTS など）の存在下で、上記(b)におけると同様の条件でスペーサー（水酸基を有するもの）と反応させて得ることができる。

【0029】さらにまた、(d) 水酸基がアルキルチオ基に変換された糖とスペーサー（水酸基を有するもの）とを、活性化剤（例えば、N-ヨードスクシンイミド(NIS)／トリフルオロメタンスルホン酸(TfOH)など）の存在下で反応させることによって行うことができる。

【0030】糖は、先ずリン酸と結合していないスペーサーと結合させてもよく、或いはスペーサーとリン酸またはリン酸のエステル誘導体（リン酸に後記「脂質」が導入されたもの）との反応物に糖を導入してもよい。前者の場合には勿論、糖とスペーサーとの反応物に更にリン酸またはその誘導体を導入しなければならない。また、亜リン酸誘導体とエステル結合を形成させた後酸化、脱保護を経て目的物を得ることもできる。

【0031】スペーサーは、一端に糖と結合するための官能基、即ち水酸基、アミノ基またはカルボキシル基を有するものであり、他端はリン酸とエステル結合を形成するための水酸基を有する。言い替えれば、エチレングリコールまたはポリエチレングリコールまたはそれらの一端の水酸基がアミノ基またはカルボキシル基により置換されたものである。

【0032】スペーサーとリン酸またはそのエステル誘導体との結合反応は、概ね既知の方法で可能である。ただし、亜リン酸トリエステルを経由するフォスフォルアミダイト法によるのが簡便である。

【0033】式(I)におけるR（以下、「脂質」ということがある）がコレステロール残基であるときは、コレステロールの水酸基がそのままリン酸とのエステル結合に利用できる。Rが直鎖アルカノール残基であるとき、その炭素原子数は12～20であるが、より好ましくは

14~18である。

【0034】R'の直鎖アルキル基においても炭素原子数が12~20のものであるが、14~18のものがより好ましい。

【0035】リン酸と脂質との結合は、リン酸自体またはリン酸とスペーサー（またはスペーサーに糖が結合したもの）とが結合したものと脂質とのエステル反応により得られる。このエステル結合反応は、前記スペーサーとリン酸とのエステル結合反応と特に変わる点はない。

【0036】かくして得られる本発明のリン脂質は、リポソームを安定して修飾することができ、かつ臓器がリン脂質の糖を認識できるレセプター等を有するとき、リポソームにその臓器への指向性を付与できる。

【0037】第2に、本発明のリポソームについて説明する。

【0038】本発明のリポソームは、上述した本発明の物質であるリン脂質を配合したリポソームであって、該物質の特定の性質を専ら利用する物である。

【0039】本発明のリポソームの調製には、本発明のリン脂質を使用する他には特別の制限はなく、従来公知の方法に従って行なえばよく、基本的には本発明のリン脂質を両親媒性物質である他の膜成分と共に溶媒に溶解または分散して混合する。具体的には、ホスファチジルコリン、スフィンゴミエリン、ホスファチジルエタノールアミン等の脂質やジアルキル型合成界面活性剤等の膜成分物質と本発明のリン脂質とを予め混合し、これを公知の方法(Ann. Rev. Biophys. Bioeng., 9, 467(1980))に従いリポソームの水分散液を調製する。かかるリポソームは膜安定化剤としてコレステロール等のステロール類、ジアルキルリン酸、ステアリルアミン等の荷電物質およびトコフェロール等の酸化防止剤を含んでいてよい。

【0040】上記のようにして調製されるリポソームにおいて、本発明の物質が全脂質膜成分に対して占める割合は約1/40モル比以上、好ましくは1/20モル比以上とするのが望ましい。

【0041】かかるリポソームが保持しうる薬物には特に制限はなく、水溶性薬物でも脂溶性薬物でもよく、例えシトシンアラビノシド、ダウノルビシン及びメトトレキセートに代表される制癌剤、ペニシリンGに代表される抗生素質、インシュリン、インターフェロン及び組織プラスミノーゲンアクチベータに代表される生理活性物質などを挙げることができる。

【0042】

【実施例】以下、実施例及び検査例により本発明をさらに説明する。

【0043】実施例1（化合物4-5の合成、図1参照）

(a) 化合物4-1の合成

グリコール酸ナトリウム 5.048 g に N, N-ジメチルホ

ルムアミド 4.0 m l 及びベンジルプロミド 6.12 m l を加え、アルゴン雰囲気下に 80°C で 17 時間攪拌した。溶媒を減圧下留去し、残渣に酢酸エチルを加えて不溶物を沪去した。溶媒を減圧下留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し（溶出溶媒； n-ヘキサン-酢酸エチル 3 : 1）、目的物を無色油状物として 7.738 g 得た。

【0044】¹H-NMR (δ, CDCl₃) : 2.38(t, 1H, J=5.5Hz), 4.20(d, 2H, J=5.5Hz), 5.24(s, 2H), 7.33-7.40(m, 5H)。

【0045】IR (KBr tab) : 1744 cm⁻¹。

【0046】(b) 化合物4-2の合成

β-D-ガラクトース ペンタアセテート 5.060 g に化合物4-1 2.797 g (1.3 eq) 及び塩化メチレン 5.0 m l を加えて溶かし、少量の「モレキュラーシーブ 4 A」を加えて室温で 50 分間攪拌した。これを氷冷し、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体 6.38 m l を塩化メチレン 1.0 m l に溶かして加え、室温で 13 時間攪拌した。不溶物を沪去し、塩化メチレンで希釈して飽和食塩水で 6 回洗浄した。有機層を硫酸マグネシウム上乾燥させ、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し（溶出溶媒； n-ヘキサン-酢酸エチル 1 : 1）、目的物と β-D-ガラクトース ペンタアセテートの混合物（モル比； 約 2 : 1）を無色油状物として 3.312 g 得た。

【0047】(c) 化合物4-3の合成

上記の化合物4-2と β-D-ガラクトース ペンタアセテートの混合物 3.312 g を酢酸エチル 1.00 m l に溶かし、ここに 10% Pd-C (dry) 0.105 g を加え、常圧で 1.5 時間接触還元した。触媒を沪去し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し（溶出溶媒； クロロホルム-メタノール-水 60 : 35 : 7）、目的物を無色非晶質として 1.907 g 得た。

【0048】¹H-NMR (δ, DMSO-d₆) : 1.92(s, 3H), 2.00(s, 3H), 2.04(s, 3H), 2.11(s, 3H), 3.85(s, 2H), 4.04(d, 2H), 4.14(brt, 1H), 4.79(d, 1H, J=8.1Hz), 4.95(dd, 1H, J=8.1Hz, 10.4Hz), 5.14(dd, 1H, J=10.4Hz, 3.5Hz), 5.25(brd)。

【0049】IR (KBr tab) : 1751 cm⁻¹。

【0050】[α]_D²⁴ = -7.5° (c = 0.98, MeOH)。

【0051】(d) 化合物4-4の合成

化合物4-3、0.368 g 及び 1-ヒドロキシベンゾトリアゾール 0.154 g を酢酸エチル 5 m l に溶かし、ここに N, N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド 0.203 g を加え、室温で 2.5 時間攪拌した。沈殿を沪去し、溶媒を減圧下留去した。これを活性エステルとして、精製せ

ずに以下の反応に用いた。

【0052】1, 2-O, O-ジヘキサデシル-*r a c*-グリセロ-3-fosfoetanolamin 0.300 g を塩化メチレン5 m l に懸濁させ、ここに上記の活性エステル全量を塩化メチレン5 m l に溶かし、トリエチルアミンでpH=9とした溶液を加え、30分間超音波にかけた。反応液を氷冷し、1 N 塩酸でpH=1とした後、溶媒を減圧下留去した。水をベンゼン及びエタノールとの共沸で除いた後、残渣を「Sephadex LH-20」カラムで精製し（樹脂；約150 m l、溶出溶媒；クロロホルム-メタノール 1:1）、目的物を無色非晶質として0.415 g 得た。

【0053】¹H-NMR (δ , CD₃OD) : 0.89(t, 6H, J=7.0Hz), 1.25-1.38(m, 52H), 1.57(quintet, 4H, J=6.8Hz), 1.99(s, 3H), 2.05(s, 3H), 2.12(s, 3H), 2.18(s, 3H), 3.45-3.66(m, 9H), 3.88-3.96(m, 4H), 4.10(br t, 1H), 4.14-4.21(m, 2H), 4.17(d, 1H, J=15.1Hz), 4.29(d, 1H, J=15.1Hz), 4.73(d, 1H, J_{1,2}=7.6Hz), 5.14(dd, 1H, J=10.4Hz, 3.2Hz), 5.19(dd, 1H, J=7.6Hz, 10.4Hz), 5.42(d d, 1H, J=3.2Hz, 1.0Hz)。

【0054】IR (KBr tab) : 1755 c m⁻¹。

【0055】 $[\alpha]_D^{28} = -1.4^\circ$ (c=0.94, CHCl₃-MeOH 1:1)。

【0056】(e) 化合物4-5の合成

化合物4-4、0.379 g にベンゼン3 m l 及びメタノール3 m l を加えて溶かした。ここに28%ナトリウムメトキシドメタノール溶液を加えてpH=10とし、30分間攪拌した。氷冷し、1 N 塩酸を加えてpH=1とした後、溶媒を減圧下留去した。水をベンゼン及びエタノールとの共沸で除いた後、残渣を「Sephadex LH-20」カラムで精製し（樹脂；約150 m l、溶出溶媒；クロロホルム-メタノール-水 65:15:1）、目的物を無色非晶質として0.274 g 得た。

【0057】¹H-NMR (δ , CD₃OD) : 0.89(t, 6H, J=7.0Hz), 1.24-1.39(m, 52H), 1.57(br quintet, 4H), 3.45-3.67(m, 12H), 3.75(dd, 1H, J_{5,6a}=5.4Hz, J_{6a,6b}=11.5Hz), 3.80(dd, 1H, J=6.6Hz, 11.5Hz), 3.89(br d, 1H), 3.94-4.07(m, 4H), 4.16(d, 1H, J=15.9Hz), 4.28(d, 1H, J=7.6Hz), 4.33(d, 1H, J=15.9Hz)。

【0058】IR (KBr tab) : 1659 c m⁻¹。

【0059】 $[\alpha]_D^{29} = -3.5^\circ$ (c=1.04, CHCl₃-MeOH 1:1)。

【0060】FAB-MS : [M+H]⁺; m/z = 885。

【0061】実施例2（化合物4-9の合成、図2参照）

(a) 化合物4-6の合成

β -D-ガラクトース ペンタアセテート 5.024 g にエ

チレングリコールモノベンジルエーテル2.38 m l 及び塩化メチレン50 m l を加えて溶かし、少量の「モレキュラーシーブ4 A」を加えて室温で50分間攪拌した。これを氷冷し、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体6.33 m l を塩化メチレン10 m l に溶かして加え、室温で13.5時間攪拌した。不溶物を沪去し、塩化メチレンで希釈して飽和食塩水で6回洗浄した。有機層を硫酸マグネシウム上乾燥させた、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し（溶出溶媒；n-ヘキサン-酢酸エチル 2:1）、目的物と β -D-ガラクトース ペンタアセテートの混合物（モル比；約1:1）を無色油状物として5.256 g 得た。

【0062】(b) 化合物4-7の合成

上記の化合物4-6と β -D-ガラクトース ペンタアセテートの混合物から4.238 g を分取し、酢酸エチル300 m l に溶かし、ここに10%Pd-C (dry) 0.112 g を加え、常圧で4.5時間接触還元した。ここで触媒0.149 g を追加し、さらに15.5時間接触還元した。触媒を沪去し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し（溶出溶媒；n-ヘキサン-酢酸エチル 1:5）、目的物を無色結晶として1.907 g 得た。

【0063】¹H-NMR (δ , CDCl₃) : 1.99(s, 3H), 2.07(s, 3H), 2.08(s, 3H), 2.17(s, 3H), 2.47(t, 1H, J=6.6Hz), 3.68-3.78(m, 2H), 3.86(t, 2H, J=4.4Hz), 3.96(dt, 1H, J=1.0Hz, 6.6Hz), 4.16(d, 2H, J=6.6Hz), 4.52(d, 1H, J=8.0Hz), 5.03(dd, 1H, J=10.5Hz, 3.4Hz), 5.23(dd, 1H, J=8.0Hz, 10.5Hz), 5.40(dd, 1H, J=3.4Hz, 1.0Hz)。

【0064】IR (KBr tab) : 1753 c m⁻¹。

【0065】 $[\alpha]_D^{28} = -11.6^\circ$ (c=0.88, CHCl₃)。

【0066】(c) 化合物4-8の合成

アルゴン雰囲気下、2-シアノエチルN, N-ジイソプロピルクロロfosforylアミダイト406 μ l、ジイソプロピルエチルアミン475 μ l 及び塩化メチレン5 m l の混合溶液に化合物4-7を0.714 g 加え、室温で1.5時間攪拌した。溶媒を減圧下留去し、残渣に2-(n-ヘキサデシル)-1-オクタデカノール0.600 g 及び塩化メチレン12 m l を加えて溶かし、アルゴン雰囲気下で攪拌した。ここに1H-テトラゾール0.170 g をアセトニトリル5 m l に溶かして加えて、室温で45分間攪拌した。反応液に35%過酸化水素水531 μ l 及びアセトニトリル4 m l を加え、さらに室温で1.5時間攪拌した。クロロホルムを加えて希釈し、水、10%クエン酸及び飽和食塩水でこの順で洗い、硫酸マグネシウム上乾燥させた。溶媒を減圧下留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し（溶出溶媒；n-ヘキサン-酢酸エチル 1:2）、目的物を無色非

晶質として 1.161 g 得た。

【0067】このものは $^1\text{H-NMR}$ 上、ジアステレオマーの 1 : 1 の混合物であり、一部のピークは分離して観測された。以下の水素数については、全体で 1 分子分となるように換算して示してある。

【0068】 $^1\text{H-NMR}$ (δ , CDCl_3) : 0.88(t, 6H, $J=7.0\text{Hz}$), 1.22-1.34(br s, 60H, $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)$ ₁₅-), 1.64(br s, 1H), 1.99(s, 3H), 2.05(s, 3H), 2.07(s, 1.5H), 2.08(s, 1.5H), 2.16(s, 1.5H), 2.16(s, 1.5H), 2.76-2.80(m, 2H), 3.76-3.82(m, 1H), 3.92(br t, 1H), 3.98(dd, 2H, $J=5.6\text{Hz}$), 4.03-4.08(m, 1H), 4.10-4.26(m, 6H), 4.54(d, 1H, $J=8.1\text{Hz}$), 5.03(dd, 1H, $J=10.3\text{Hz}$, 3.4Hz), 5.20(dd, 1H, $J=8.1\text{Hz}, 10.5\text{Hz}$), 5.39-5.41(m, 1H)。

【0069】IR (KBr tab) : 1749cm⁻¹, 1232cm⁻¹。

【0070】 $[\alpha]_D^{25} = -5.3^\circ$ ($c = 0.99$, CHCl_3)。

【0071】(d) 化合物4-9の合成

化合物4-8、1.092 g にベンゼン6 m 1 及びメタノール3 m 1 を加えて溶かした。ここに28%ナトリウムメトキシドメタノール溶液を加えてpH=10とし、室温で7.5時間搅拌した。氷冷し、1N塩酸を加えてpH=1とした後、溶媒を減圧下留去した。残渣を「Sephadex LH-20」カラムで精製した(樹脂; 約150 m 1、溶出溶媒; クロロホルム-メタノール-水65:15:1)。残存する水をベンゼンとの共沸で除去し、目的物を無色非晶質として0.752 g 得た。

【0072】 $^1\text{H-NMR}$ (δ , $\text{CDCl}_3-\text{CD}_3\text{O}_\text{D}$ 1:1) : 0.89(t, 6H, $J=7.0\text{Hz}$), 1.20-1.38(br s, 60H), 1.63(br s, 1H), 3.51(dd, 1H, $J=10.2\text{Hz}, 3.1\text{Hz}$), 3.52(br t, 1H), 3.58(br t, 1H), 3.75(dd, 1H, $J=5.4\text{Hz}, 1.5\text{Hz}$), 3.81(dd, 1H, $J=6.7\text{Hz}, 11.5\text{Hz}$), 3.81-3.85(m, 1H), 3.88(br d, 1H), 3.91(dd, 2H, $J=5.2\text{Hz}$), 4.08(dt, 1H, $J=11.2\text{Hz}, 4.0\text{Hz}$), 4.14-4.24(m, 2H), 4.29(d, 1H, $J=7.6\text{Hz}$)。

【0073】 $[\alpha]_D^{20} = -3.4^\circ$ ($c = 1.01$, $\text{CHCl}_3-\text{MeOH}$ 1:1)。

【0074】FAB-MS : M; m/z = 780。

【0075】実施例3(化合物4-11の合成、図3参照)

(a) 化合物4-10の合成

アルゴン雰囲気下、2-シアノエチルN, N-ジイソプロピルクロロフォスフォルアミダイト621 μl 、ジイソプロピルエチルアミン274 μl 及び塩化メチレン1 m 1 の混合溶液に化合物4-7、0.514 g を塩化メチレン4 m 1 に溶かして加え、室温で2時間搅拌した。溶媒を減圧下留去し、残渣にセチルアルコール0.476 g 及び塩化メチレン10 m 1 を加えて溶かし、アルゴン雰囲気下で搅拌した。ここに1H-テトラゾール0.184 g をア

セトニトリル5 m 1 に溶かして加え、室温で1.5時間搅拌した。反応液に35%過酸化水素水573 μl 及びアセトニトリル3 m 1 を加え、さらに室温で2.5時間搅拌した。クロロホルムを加えて希釈し、水、10%クエン酸及び飽和食塩水でこの順で洗い、硫酸マグネシウム上乾燥させた。溶媒を減圧下留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し(溶出溶媒; n-ヘキサン-酢酸エチル 1:3)、目的物を無色非晶質として0.277 g 得た。

【0076】このものは $^1\text{H-NMR}$ 上、ジアステレオマーの 1 : 1 の混合物であり、一部のピークは分離して観測された。以下の水素数については、全体で 1 分子分となるように換算して示してある。

【0077】 $^1\text{H-NMR}$ (δ , CDCl_3) : 0.88(t, 3H, $J=7.0\text{Hz}$), 1.22-1.40(m, 26H), 1.69(quintet, 2H, $J=7.0\text{Hz}$), 1.99(s, 3H), 2.06(s, 3H), 2.08(s, 1.5H), 2.16(s, 3H), 2.77-2.80(m, 2H), 3.76-3.81(m, 1H), 3.93(dt, 1H, $J=0.9\text{Hz}, 6.8\text{Hz}$), 4.04-4.26(m, 9H), 4.54(d, 1H, $J=8.0\text{Hz}$), 5.03(dd, 1H, $J=10.5\text{Hz}, 3.4\text{Hz}$), 5.20(dd, 0.5H, $J=8.0\text{Hz}, 10.5\text{Hz}$), 5.20(dd, 0.5H, $J=8.0\text{Hz}, 10.5\text{Hz}$), 5.39-5.41(m, 1H)。

【0078】IR (KBr tab) : 1755cm⁻¹, 1227cm⁻¹。

【0079】 $[\alpha]_D^{25} = -5.3^\circ$ ($c = 0.99$, CHCl_3)。

【0080】(b) 化合物4-11の合成

化合物4-10、0.244 g にベンゼン4 m 1 及びメタノール2 m 1 を加えて溶かした。ここに28%ナトリウムメトキシドメタノール溶液を加えてpH=10とし、室温で3.5時間搅拌した。氷冷し、1N塩酸を加えてpH=1とした後、溶媒を減圧下留去した。残渣を「Sephadex LH-20」カラムで精製し(樹脂; 約100 m 1、溶出溶媒; クロロホルム-メタノール-水1:1)、目的物を無色非晶質として0.159 g 得た。

【0081】 $^1\text{H-NMR}$ (δ , $\text{CDCl}_3-\text{CD}_3\text{O}_\text{D}$ 1:1) : 0.89(t, 3H, $J=7.0\text{Hz}$), 1.22-1.42(m, 26H), 1.68(quintet, 2H, $J=7.0\text{Hz}$), 3.51(dd, 1H, $J=9.5\text{Hz}, 3.2\text{Hz}$), 3.52(br t, 1H), 3.58(br t, 1H), 3.75(dd, 1H, $J=5.1\text{Hz}, 11.5\text{Hz}$), 3.81(dd, 1H, $J=6.6\text{Hz}, 11.5\text{Hz}$), 3.81-3.85(m, 1H), 3.88(br d, 1H), 4.00(dd, 1H, $J=12.9\text{Hz}$), 4.07(br dt, 1H), 4.16-4.20(m, 2H), 4.29(d, 1H, $J=7.6\text{Hz}$)。

【0082】 $[\alpha]_D^{23} = -1.8^\circ$ ($c = 0.55$, $\text{CHCl}_3-\text{MeOH}$ 1:1)。

【0083】FAB-MS : M; m/z = 528。

【0084】実施例4(化合物4-13の合成、図4参照)

(a) 化合物4-12の合成

アルゴン雰囲気下、2-シアノエチルN, N-ジイソプロピルクロロフォスフォルアミダイト314 μl 、ジイソプロピルエチルアミン267 μl 及び塩化メチレン5

m 1 の混合溶液に化合物4-7を0.502g加え、室温で2時間攪拌した。溶媒を減圧下留去し、残渣にコレステロール0.742g及び塩化メチレン10m1を加えて溶かし、アルゴン雰囲気下で攪拌した。ここに1H-テトラゾール0.179gをアセトニトリル5m1に溶かして加え、室温で2.5時間攪拌した。反応液に35%過酸化水素水56.0μl及びアセトニトリル3m1を加え、さらに室温で2時間攪拌した。クロロホルムを加えて希釈し、水、10%クエン酸及び飽和食塩水でこの順で洗い、硫酸マグネシウム上乾燥させた。溶媒を減圧下留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し(溶出溶媒；n-ヘキサン-酢酸エチル1:3)、目的物を無色非晶質として0.673g得た。

【0085】このものは¹H-NMR上、ジアステロマーの1:1の混合物であり、一部のピークは分離して観測された。以下の水素数については、全体で1分子分となるように換算して示してある。

【0086】¹H-NMR(δ, CDCl₃) : 0.68(s, 3H), 0.86(d, 3H, J=2.2Hz), 0.87(d, 3H, J=2.2Hz), 0.91(d, 3H, J=6.6Hz), 1.02(s, 3H), 0.90-2.10(m, 27H), 1.99(s, 3H), 2.06(s, 3H), 2.08(s, 1.5H), 2.09(s, 1.5H), 2.16(s, 3H), 2.45(br d, 2H), 2.76-2.80(m, 2H), 3.76-3.82(m, 1H), 3.92(dt, 1H, J=1.1Hz, 6.7Hz), 4.04-4.08(m, 1H), 4.11-4.28(m, 7H), 4.54(d, 0.5H, J=8.1Hz), 4.54(d, 0.5H, J=8.1Hz), 5.02(dd, 0.5H, J=10.5Hz, 3.4Hz), 5.03(dd, 0.5H, J=10.5Hz, 3.4Hz), 5.20(dd, 0.5H, J=8.1Hz, 10.3Hz), 5.21(dd, 0.5H, J=8.1Hz, 10.3Hz), 5.39-5.41(m, 2H)。

【0087】IR(KBR tab) : 1753cm⁻¹, 1227cm⁻¹。

【0088】[α]_D²⁵=-20.1°(c=1.0, CHCl₃)。

【0089】(b) 化合物4-13の合成

化合物4-12、0.634gにベンゼン6m1及びメタノール3m1を加えて溶かした。ここに28%ナトリウムメトキシドメタノール溶液を加えてpH=10とし、室温で5.5時間攪拌した。氷冷し、2N塩酸を加えてpH=1とした後、溶媒を減圧下留去した。残渣を「Sephadex LH-20」カラムで精製し(樹脂；約100m1、溶出溶媒；クロロホルム-メタノール1:1)、目的物を無色非晶質として0.427g得た。

【0090】¹H-NMR(δ, CDCl₃-CD₃OD 4:3) : 0.70(s, 3H), 0.87(d, 3H, J=2.2Hz), 0.88(d, 3H, J=2.0Hz), 0.93(d, 3H), 1.03(s, 3H), 0.90-2.06(m, 26H), 2.39-2.47(m, 2H), 3.51(dd, 1H, J=10.0Hz, 3.0Hz), 3.52(br t, 1H), 3.58(br t, 1H), 3.75(dd, 1H, J=5.4Hz, 11.5Hz), 3.82(dd, 1H, J=6.6Hz, 11.5Hz), 3.80-3.84(m, 1H), 3.88(br d, 1H), 4.07(br dt, 1H), 4.10-4.22(m, 4H), 4.29(d, 1H, J=7.5Hz), 5.40(br d, 1H)。

【0091】[α]_D²³=-21.7°(c=1.0

0, CHCl₃-MeOH 1:1)。

【0092】FAB-MS : M; m/z=672。

【0093】実施例5(化合物4-19の合成、図5参照)

(a) 化合物4-14の合成

水素化ナトリウム3.300g(60% dispersion)をn-ヘキサンで洗い、N,N-ジメチルホルムアミド10m1に懸濁させ、氷冷下攪拌した。ここに2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-メタノール9.891gをN,N-ジメチルホルムアミド15m1に溶かして加え、室温で10分間攪拌した。ここで、N,N-ジメチルホルムアミド35m1を追加し、さらに20分間攪拌した。再び氷冷し、ベンジルプロミド9.35m1を加え、室温で11.5時間攪拌した。溶媒を減圧下留去した。残渣に酢酸エチルを加え、不溶物を沪去し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し(溶出溶媒；n-ヘキサン-酢酸エチル10:1)、目的物を淡黄色油状物として12.029g得た。

【0094】¹H-NMR(δ, CDCl₃) : 1.37(s, 3H), 1.42(s, 3H), 3.48(dd, 1H, J=9.8Hz, 5.5Hz), 3.56(dd, 1H, J₁=9.8Hz, 5.5Hz, CH₂OBn), 3.75(dd, 1H, J=8.3Hz, 6.3Hz), 4.06(dd, 1H, J=8.3Hz, 6.3Hz), 4.30(br tt, 1H), 4.56(d, 1H, J=12.2Hz), 4.60(d, 1H, J=12.2Hz), 7.27-7.37(m, 5H)。

【0095】(b) 化合物4-15の合成

化合物4-14、12.018gにメタノール30m1を加えて溶かした。ここに2N塩酸5m1を加え、室温で40分間攪拌した。溶媒を減圧下留去し、残った水をベンゼンとの共沸で除いた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し(溶出溶媒；酢酸エチル)、目的物を無色油状物として8.314g得た。

【0096】¹H-NMR(δ, CDCl₃) : 2.14(br t, 1H), 2.64(d, 1H, J=5.1Hz), 3.55(dd, 1H, J=9.6Hz, 6.2Hz), 3.59(dd, 1H, J=9.6Hz, 4.0Hz), 3.64(dd, 1H, J=11.2Hz, 5.6Hz), 3.71(dd, 1H, J=11.2Hz, 3.9Hz, 7.2Hz), 3.87-3.92(m, 1H), 4.56(d, 1H, J=12.2Hz), 7.29-7.38(m, 5H)。

【0097】(c) 化合物4-16の合成

水素化ナトリウム1.891g(60% dispersion)をn-ヘキサンで洗い、N,N-ジメチルホルムアミド20m1に懸濁させ、氷冷下攪拌した。ここに化合物4-15、3.915gをN,N-ジメチルホルムアミド20m1に溶かして加え、室温で40分間攪拌した。再び氷冷し、1-ブロモヘキサデカン15.8m1を加え、70°Cで16時間攪拌した。溶媒を減圧下留去した。残渣に酢酸エチルを加え、不溶物を沪去し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し(溶出溶媒；n-ヘキサン-酢酸エチル25:1)、目的物を無色油状物として4.733g得た。

【0098】¹H-NMR (δ, CDCl₃) : 0.88(t, 6H, J=7.0Hz), 1.22-1.34(m, 52H), 1.51-1.59(m, 4H), 3.43(t, 2H, J=6.6Hz), 3.46-3.61(m, 5H), 3.57(t, 2H, J=6.6Hz), 4.55(s, 2H), 7.27-7.33(m, 5H)。

【0099】(d) 化合物4-17の合成

化合物4-16、4.641gに酢酸エチル6.0m1及びメタノール2.0m1を加えて溶かした。ここに10%Pd-C (dry) 0.197gを加え、常圧で4.5時間還元した。塩化メチレンを加えて析出した目的物を溶かし、触媒を沪去し、溶媒を減圧下留去した。目的物を無色粉末として3.704g得た。

【0100】¹H-NMR (δ, CDCl₃) : 0.88(t, 6H, J=7.0Hz), 1.22-1.34(m, 52H), 1.52-1.61(m, 4H), 2.16(br t, 1H), 3.42-3.55(m, 6H), 3.58-3.64(m, 2H), 3.70-3.74(m, 1H)。

【0101】(e) 化合物4-18の合成

アルゴン雰囲気下、2-シアノエチルN, N-ジイソプロピルクロロフォスフォルアミダイト2.93μl、ジイソプロピルエチルアミン3.43μl及び塩化メチレン3m1の混合溶液に化合物4-7を0.515g加え、室温で30分間攪拌した。溶媒を減圧下留去し、残渣に化合物4-17を0.710g、塩化メチレン5m1及びアセトニトリル5m1を加え(完全には溶けない)、アルゴン雰囲気下で攪拌した。ここに1H-テトラゾール0.138gをアセトニトリル5m1に溶かして加え、室温で30分間超音波をかけた。ここで塩化メチレン1.0m1を加えて溶かし、室温で40分間攪拌した。反応液に35%過酸化水素5.75μl及びアセトニトリル2m1を加え、さらに室温で2.5時間攪拌した。クロロホルムを加えて希釈し、水、10%クエン酸及び飽和食塩水でこの順で洗い、硫酸マグネシウム上乾燥させた。溶媒を減圧下留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し(溶出溶媒; n-ヘキサン-酢酸エチル1:2)、目的物を無色非晶質として0.636g得た。

【0102】このものは¹H-NMR上、4種のジアステレオマーの、それも、等量ずつの混合物であると思われ、一部のピークは分離して観測された。以下の水素数については、全体で1分子分となるように換算して示してある。

【0103】¹H-NMR (δ, CDCl₃) : 0.88(t, 6H, J=7.0Hz), 1.22-1.33(m, 52H), 1.52-1.58(m, 4H), 1.99(s, 3H), 2.06(s, 3H), 2.08(s, 1.5H), 2.09(s, 1.5H), 2.16(s, 3H), 2.76-2.80(m, 2H), 3.42-3.63(m, 7H), 3.76-3.82(m, 1H), 3.93(br t, 1H), 4.02-4.29(m, 9H), 4.54(d, 0.25H, J=8.0Hz), 4.54(d, 0.5H, J=8.0Hz), 4.55(d, 0.25H, J=8.0Hz), 5.03(dd, 1H, J=10.5Hz, 3.3Hz), 5.20(dd, 1H, J=8.0Hz, 10.5Hz), 5.39-5.40(m, 1H)。

【0104】IR (KBr tab) : 1753cm⁻¹, 1227cm⁻¹。

【0105】[α]_D²⁶=-5.7° (c=1.04,

CHCl₃)。

【0106】(f) 化合物4-19の合成

化合物4-18、0.605gにベンゼン5m1及びメタノール3m1を加えて溶かした。ここに28%ナトリウムメトキシドメタノール溶液を加えてpH=1.0とし、室温で2.5時間攪拌した。氷冷し、2N塩酸を加えてpH=1とした後、溶媒を減圧下留去した。残渣を「Sephadex LH-20」カラムで精製し(樹脂; 約150m1、溶出溶媒; クロロホルム-メタノール-水65:15:1)、残存する水をベンゼンとの共沸で除去し、目的物を無色非晶質として0.450g得た。

【0107】¹H-NMR (δ, CDCl₃-CD₃OD 4:3) : 0.89(t, 6H, J=7.0Hz), 1.23-1.38(m, 52H), 1.58(br quintet, 4H), 3.45-3.68(m, 9H), 3.76(dd, 1H, J=5.2Hz, 11.6Hz), 3.82(dd, 1H, J=6.6Hz, 11.6Hz), 3.80-3.84(m, 1H), 3.88(br d, 1H), 3.99-4.04(m, 1H), 4.04-4.10(m, 2H), 4.16-4.22(m, 2H), 4.29(d, 1H, J=7.6Hz)。

【0108】[α]_D²³=-3.4° (c=1.01, CHCl₃-MeOH 1:1)。

【0109】FAB-MS: M; m/z=826。

【0110】実施例6(化合物4-24の合成、図6参照)

(a) 化合物4-20の合成

水素化ナトリウム4.421g(60% dispersion)をn-ヘキサンで洗い、N, N-ジメチルホルムアミド1.00m1に懸濁させ、氷冷下攪拌した。ここにジエチレングリコール9.49m1を加え、室温で1時間攪拌した。ベンジルブロミド11.9m1を加え、室温で11時間攪拌した。溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し(溶出溶媒; n-ヘキサン-酢酸エチル1:2)、目的物を淡黄色油状物として10.432g得た。

【0111】¹H-NMR (δ, CDCl₃) : 2.36(t, 1H, J=6.2Hz), 3.61-3.66(m, 4H), 3.69-3.71(m, 2H), 3.72-3.75(m, 2H), 4.58(s, 2H), 7.27-7.38(m, 5H)。

【0112】(b) 化合物4-21の合成

β-D-ガラクトース-ペンタアセテート4.597gに化合物4-20を3.005g及び塩化メチレン5.0m1を加えて溶かし、少量の「モレキュラーシーブ4A」を加えて室温で2時間攪拌した。これを氷冷し、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体5.79m1を塩化メチレン1.0m1に溶かして加え、室温で1.2時間攪拌した。不溶物を沪去し、塩化メチレンで希釈して飽和食塩水で6回洗浄した。有機層を硫酸マグネシウム上乾燥させ、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し(溶出溶媒; n-ヘキサン-酢酸エチル3:2)、目的物とβ-D-ガラクトース-ペンタアセテートの混合物(モル比; 約10:1)を無色油状物として3.209g得た。なお、以下の物性値は、一部純粋な

形で得られたサンプルで測定した。

【0113】¹H-NMR (δ , CDCl₃) : 1.99(s, 3H), 2.02(s, 3H), 2.05(s, 3H), 2.14(s, 3H), 3.60-3.68(m, 6H), 3.77(dd, 1H, J=11.1Hz, 4.0Hz, 7.1Hz), 3.87(br dt, 1H), 3.96(dt, 1H, J=11.1Hz, 4.3Hz), 4.12(dd, 1H, J=6.8Hz, 11.2Hz), 4.16(dd, 1H, J=6.6Hz, 11.2Hz), 4.57(s, 2H), 4.57(d, 1H, J=8.1Hz), 5.00(dd, 1H, J=10.5Hz, 3.4Hz), 5.21(dd, 1H, J=8.1Hz, 10.5Hz), 5.37(dd, 1H, J=3.4Hz, 1.1Hz)。

【0114】IR (KBr tab) : 1753cm⁻¹。

【0115】 $[\alpha]_D^{22} = -7.3^\circ$ (c = 0.95, CHCl₃)。

【0116】(c) 化合物4-22の合成

上記の化合物4-21と β -D-ガラクトース ペンタアセテートの混合物 3.174g を酢酸エチル 50m1 に溶かし、ここに 10% Pd-C (dry) 0.155g を加え、50 psi で 16.5 時間接触還元した。触媒を沪去し、溶媒を減圧下留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し (溶出溶媒; n-ヘキサン-酢酸エチル 1:5)、目的物を無色非晶質として 2.093g 得た。

【0117】¹H-NMR (δ , CDCl₃) : 1.99(s, 3H), 2.06(s, 3H), 2.08(s, 3H), 2.16(s, 3H), 2.26(t, 1H, J=6.2Hz), 3.55-3.78(m, 7H), 3.92(br dt, 1H), 3.97-4.00(m, 1H), 4.13(dd, 1H, J_{6a}=6.8Hz, J=11.2Hz), 4.19(dd, 1H, J=6.8Hz, 11.2Hz), 4.57(d, 1H, J=7.8Hz), 5.03(dd, 1H, J=10.3Hz, 3.4Hz), 5.23(dd, 1H, J=8.1Hz, 10.5Hz), 5.40(dd, 1H, J=3.4Hz, 1.0Hz)。

【0118】IR (KBr tab) : 1749cm⁻¹。

【0119】 $[\alpha]_D^{22} = -6.7^\circ$ (c = 1.01, CHCl₃)。

【0120】(d) 化合物4-23の合成

アルゴン雰囲気下、2-シアノエチルN, N-ジイソプロピルクロロフォスフォルアミダイト 302 μ l、ジイソプロピルエチルアミン 295 μ l 及び塩化メチレン 1m1 の混合溶液に化合物4-22を 0.493g 加え、室温で 3 時間攪拌した。溶媒を減圧下留去し、残渣に 2-(n-ヘキサデシル)-1-オクタデカノール 0.373g 及び塩化メチレン 10m1 を加えて溶かし、アルゴン雰囲気下で攪拌した。ここに 1H-テトラゾール 0.158g をアセトニトリル 8m1 に溶かして加え、10 分間超音波をかけ、さらに室温で 20 時間攪拌した。反応液に 3.5% 過酸化水素水 330 μ l 及びアセトニトリル 2m1 を加え、さらに室温で 6.5 時間攪拌した。クロロホルムを加えて希釈し、水、10% クエン酸及び飽和食塩水でこの順で洗い、硫酸マグネシウム上乾燥させた。溶媒を減圧下留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し (溶出溶媒; n-ヘキサン-酢酸エチル

1:2)、目的物を無色非晶質として 0.593g 得た。

【0121】このものは ¹H-NMR 上、ジアステレオマーの 1:1 の混合物であり、一部のピークは分離して観測された。以下の水素数については、全体で 1 分子分となるように換算して示してある。

【0122】¹H-NMR (δ , CDCl₃) : 0.88(t, 6H, J=7.0Hz), 1.22-1.34(br s, 60H), 1.64(br s, 1H), 1.99(s, 3H), 2.05(s, 3H), 2.06(s, 3H), 2.16(s, 1.5H), 2.16(s, 1.5H), 2.74-2.84(m, 2H), 3.66-3.76(m, 5H), 3.90-3.94(m, 1H), 3.96-4.00(m, 1H), 3.99(dd, 2H, J=5.5Hz), 4.13(dd, 1H, J=7.0Hz, 11.5Hz), 4.18(dd, 1H, J=6.3Hz, 11.5Hz), 4.19-4.28(m, 4H), 4.55(d, 0.5H, J=8.1Hz), 4.56(d, 0.5H, J=8.1Hz), 5.03(dd, 0.5H, J=10.5Hz, 3.2Hz), 5.03(dd, 0.5H, J=10.5Hz, 3.2Hz), 5.39(dd, 1H, J=3.2Hz, 1.0Hz)。

【0123】IR (KBr tab) : 1753cm⁻¹, 1229cm⁻¹。

【0124】 $[\alpha]_D^{25} = -4.9^\circ$ (c = 0.96, CHCl₃)。

【0125】(e) 化合物4-24の合成

化合物4-23、0.556g にベンゼン 6m1 及びメタノール 3m1 を加えて溶かした。ここに 28% ナトリウムメトキシドメタノール溶液を加えて pH=1.0 とし、室温で 2.5 時間攪拌した。氷冷し、1N 塩酸を加えて pH=1 とした後、溶媒を減圧下留去した。残渣を「Se phade LH-20」カラムで精製した (樹脂; 約 150m1、溶出溶媒; クロロホルム-メタノール 1:1)。残存する水をベンゼンとの共沸で除去し、目的物を無色非晶質として 0.394g 得た。

【0126】¹H-NMR (δ , CDCl₃-CD₃O-D 1:1) : 0.89(t, 6H, J=7.0Hz), 1.20-1.38(br s, 60H), 1.64(br s, 1H), 3.50-3.53(m, 2H), 3.58(br t, 1H), 3.72-3.82(m, 7H), 3.89(br d, 1H), 3.91(dd, J=5.4Hz), 4.02-4.06(m, 1H), 4.11-4.15(m, 2H), 4.29(d, 1H, J=7.6Hz)。

【0127】 $[\alpha]_D^{20} = -2.2^\circ$ (c = 0.99, CHCl₃-MeOH 1:1)。

【0128】FAB-MS : M; m/z = 824。

【0129】実施例7 (リポソームの調製)

L- α -ジパルミトイルfosphaチジルコリン 80 μ mol、コレステロール 80 μ mol、及び化合物4-9、16 μ mol をクロロホルムおよびメタノールの混液 (容積比 1:1) に溶かした。次に、窒素ガス気流中で有機溶媒を除去して遠沈管のガラス壁にリピッドフィルムを生成させた。

【0130】ここに予め 45°C に加温した ³H-イヌリン 5.29 MBq (160 μ Ci) を含有する 1 mM イヌリンのリン酸緩衝化生理食塩水 (pH 7.4。以下、PBS と略することがある) 8m1 を加えて約 50°C に保温しながら振盪し、更に軽く超音波処理してリポソーム

ムの懸濁液を調製した。これを60°Cに加温し、0.2 μm、0.1 μm及び0.08 μmの孔径を有するポリカーボネート性メンブランフィルターを順に通過させ、粒径約0.1 μmのリポソームの懸濁液を調製した。

【0131】次にこれを3回超遠心分離し（1回目は10⁵ × gで14時間、2および3回目は10⁵ × gで2時間）、上澄液を除去することによりリポソームに保持されなかったイヌリンを除去し、PBSを加えて全量6m1のリポソーム懸濁液を1種得た。

【0132】また、化合物を配合しないで、上記と同様にして全量6m1のリポソーム懸濁液を得た。これをコントロールリポソームとした。

【0133】検査例1（リポソームの薬物送達能）

イ. 試験方法

実施例7で調製した2種の試料をそれぞれSD系雄性ラット（体重200～250g）の後肢静脈より体重100g当たりL-α-ジパルミトイルフォスファチジルコリンおよびコレステロールの合計として5μmolを注入した。

【0134】投与後15分、30分、1時間、2時間、4時間及び6時間目に頸静脈より血液を約0.2m1採血し、遠心後血漿0.1m1を沪紙に取り、乾燥後燃焼装置にて燃焼し、液体シンチレーション方によりその放

射活性を求めた。また、投与後6時間目にラットを屠殺し、各種組織を各約200mg採り、乾燥後、燃焼装置にて燃焼し、液体シンチレーション方によりその放射活性を求め、各臓器1g当たりのイヌリン濃度を求めた。

【0135】ロ. 結果と考察

図7に示すように、本発明の化合物で修飾したリポソームは、コントロールに対し、血漿中の濃度は急速に低下し、肝臓中の濃度が顕著に増大し、肝臓に集積していることが明らかとなった。

【0136】

【発明の効果】本発明により、リポソームに臓器指向性を付与する材料として優れた新規なリン脂質が、延いてはそのようなリン脂質を含有する優れたリポソームが容易に提供されるところとなった。

【図面の簡単な説明】

【図1】実施例1における反応を示す。

【図2】実施例2における反応を示す。

【図3】実施例3における反応を示す。

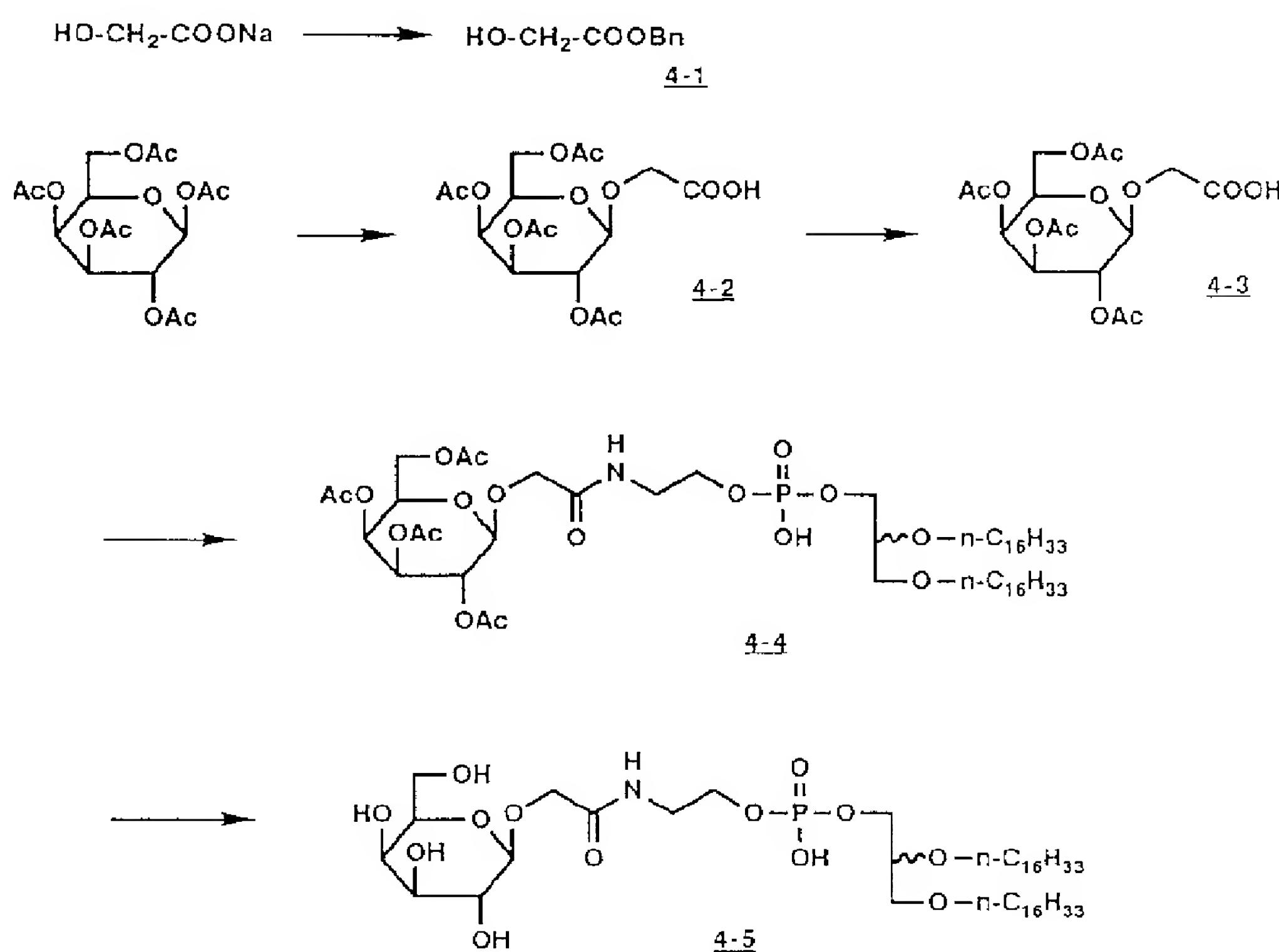
【図4】実施例4における反応を示す。

【図5】実施例5における反応を示す。

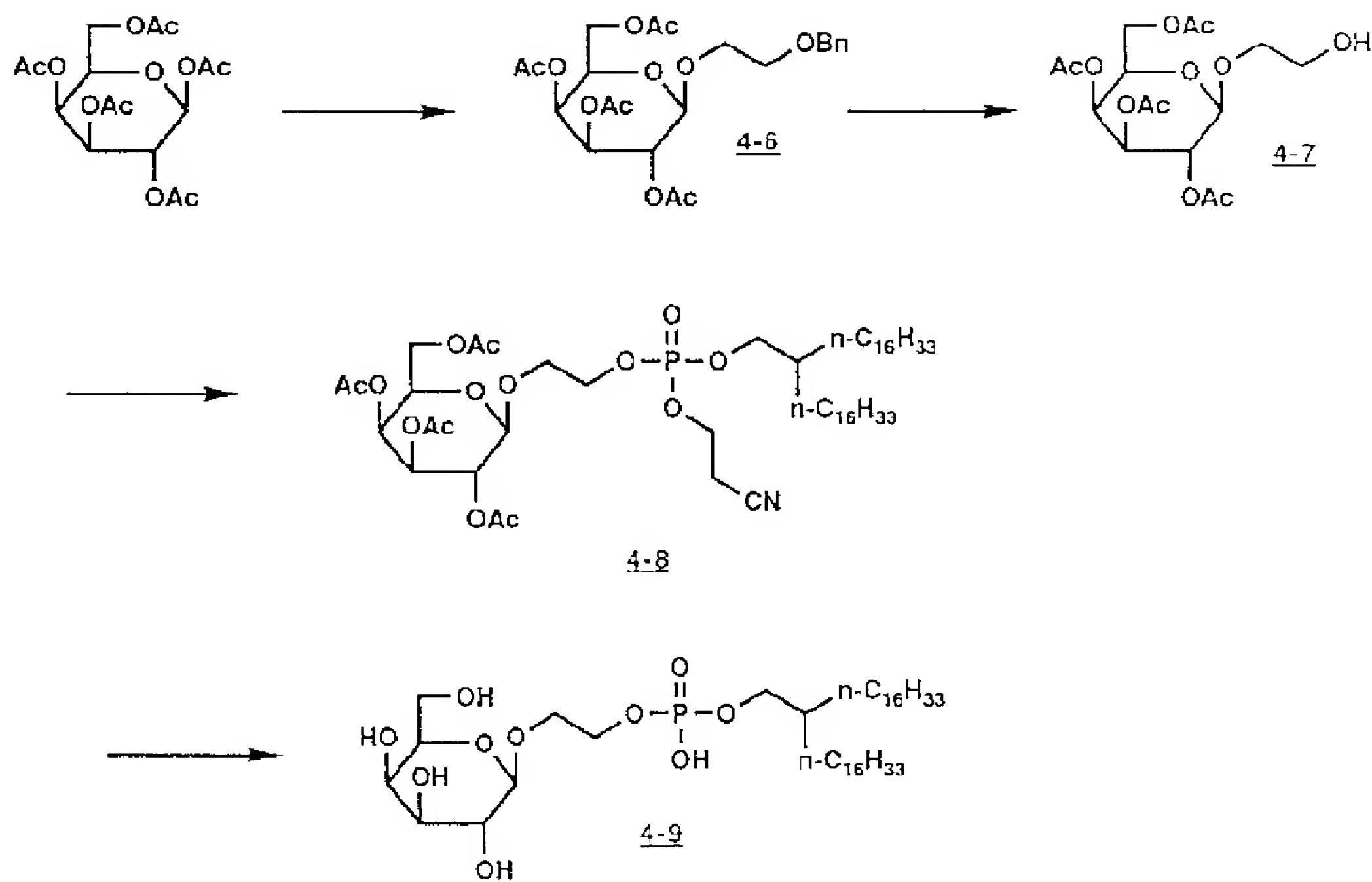
【図6】実施例6における反応を示す。

【図7】検査例1における結果を示す。

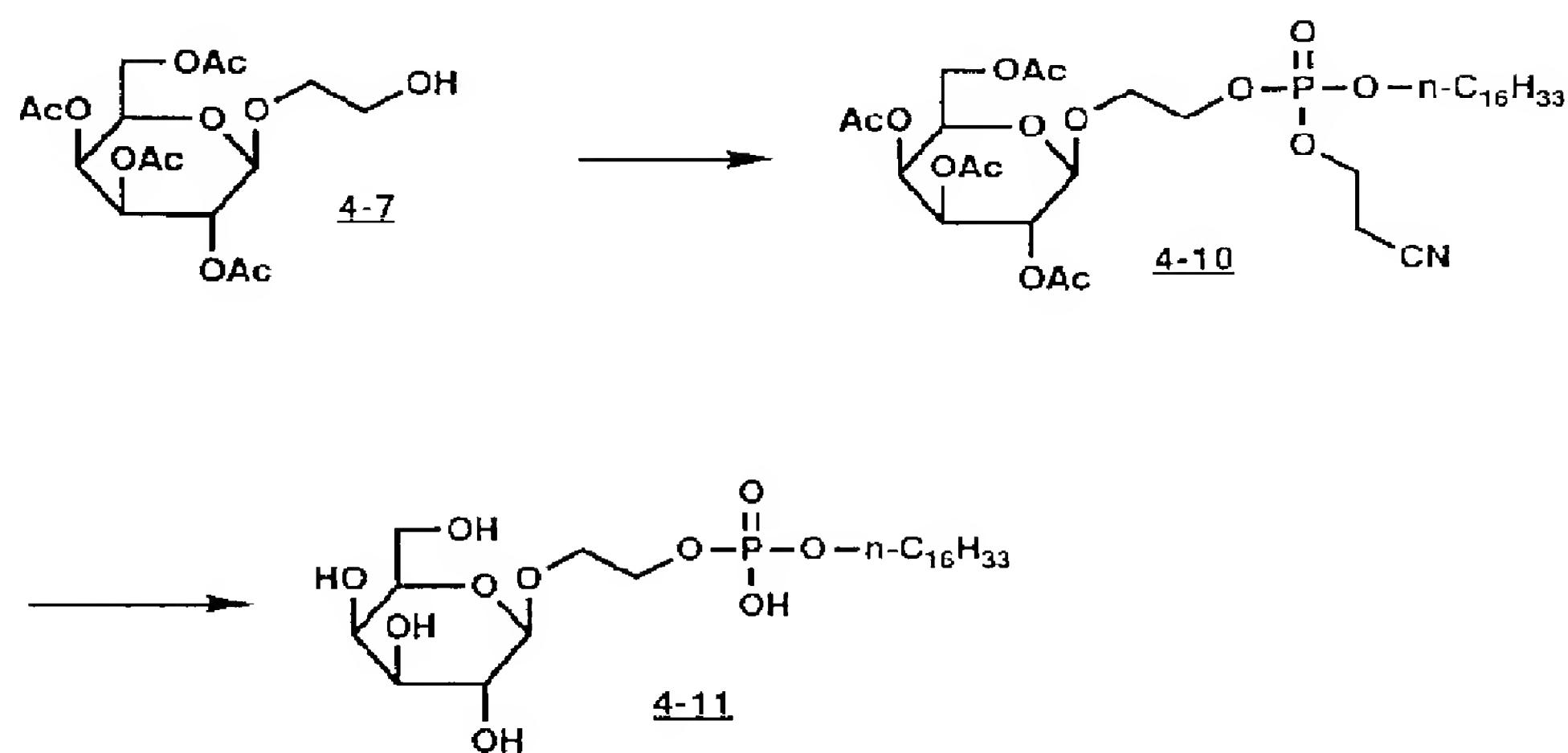
【図1】



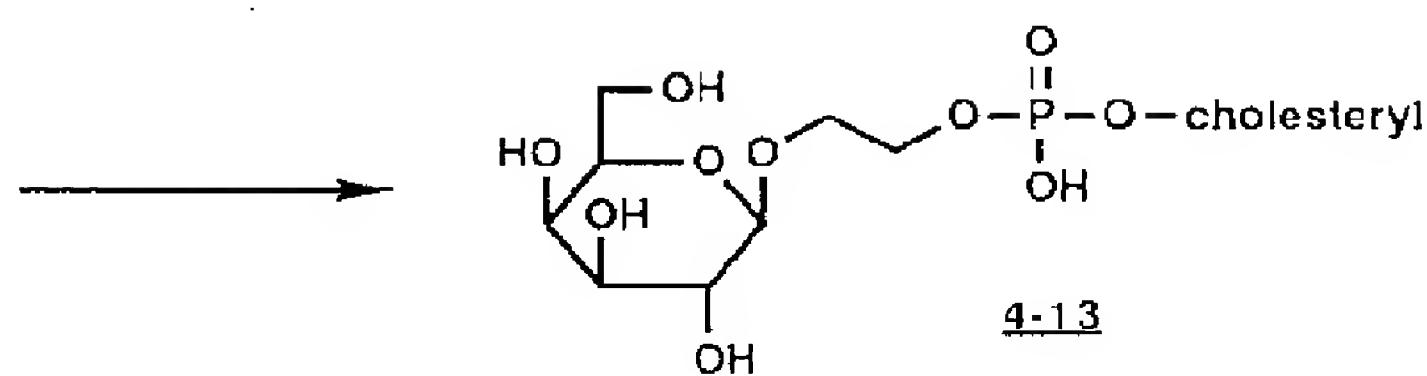
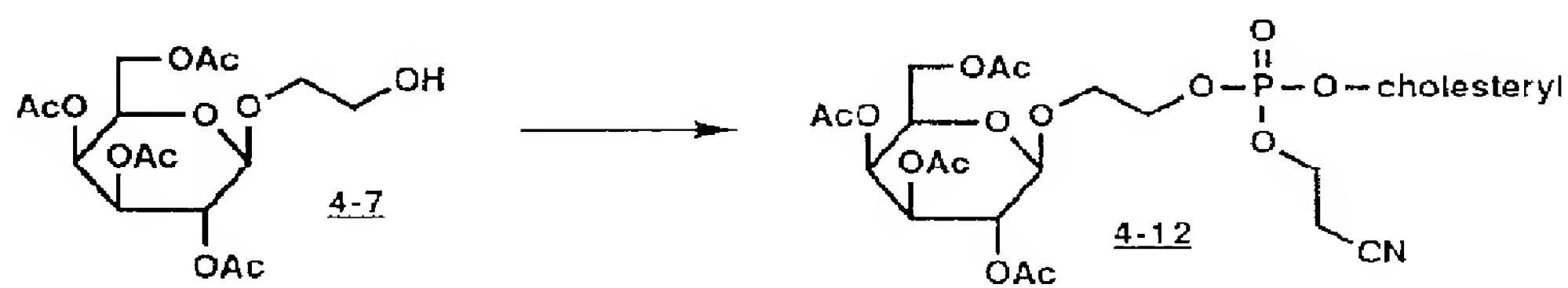
【図2】



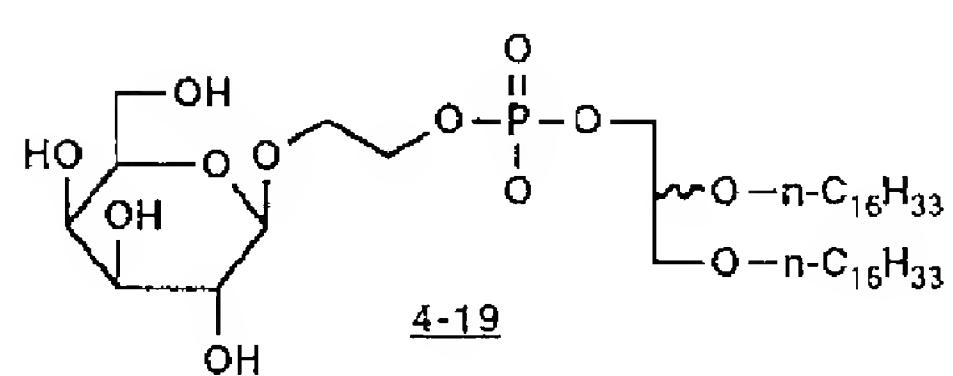
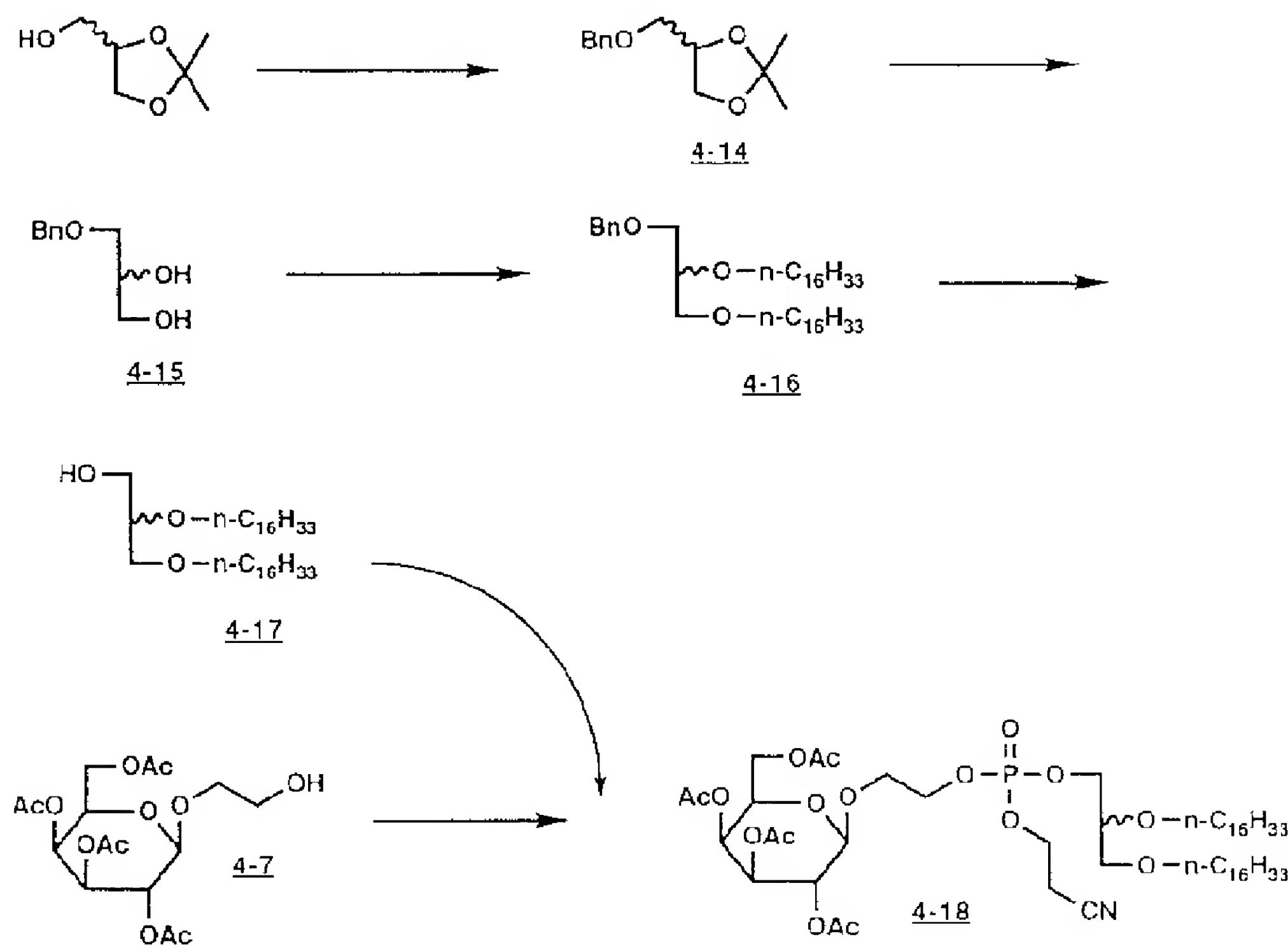
【図3】



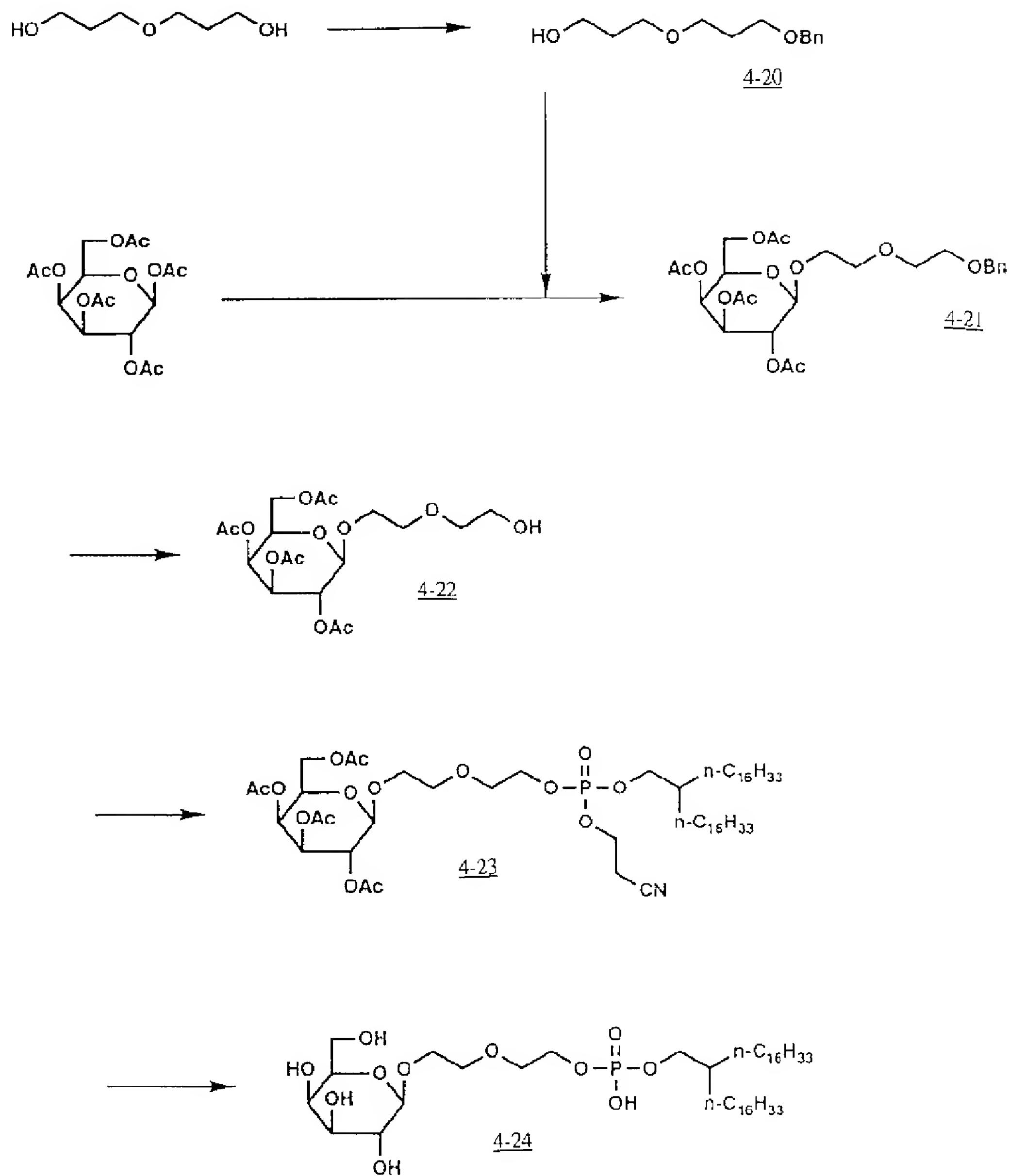
【図4】



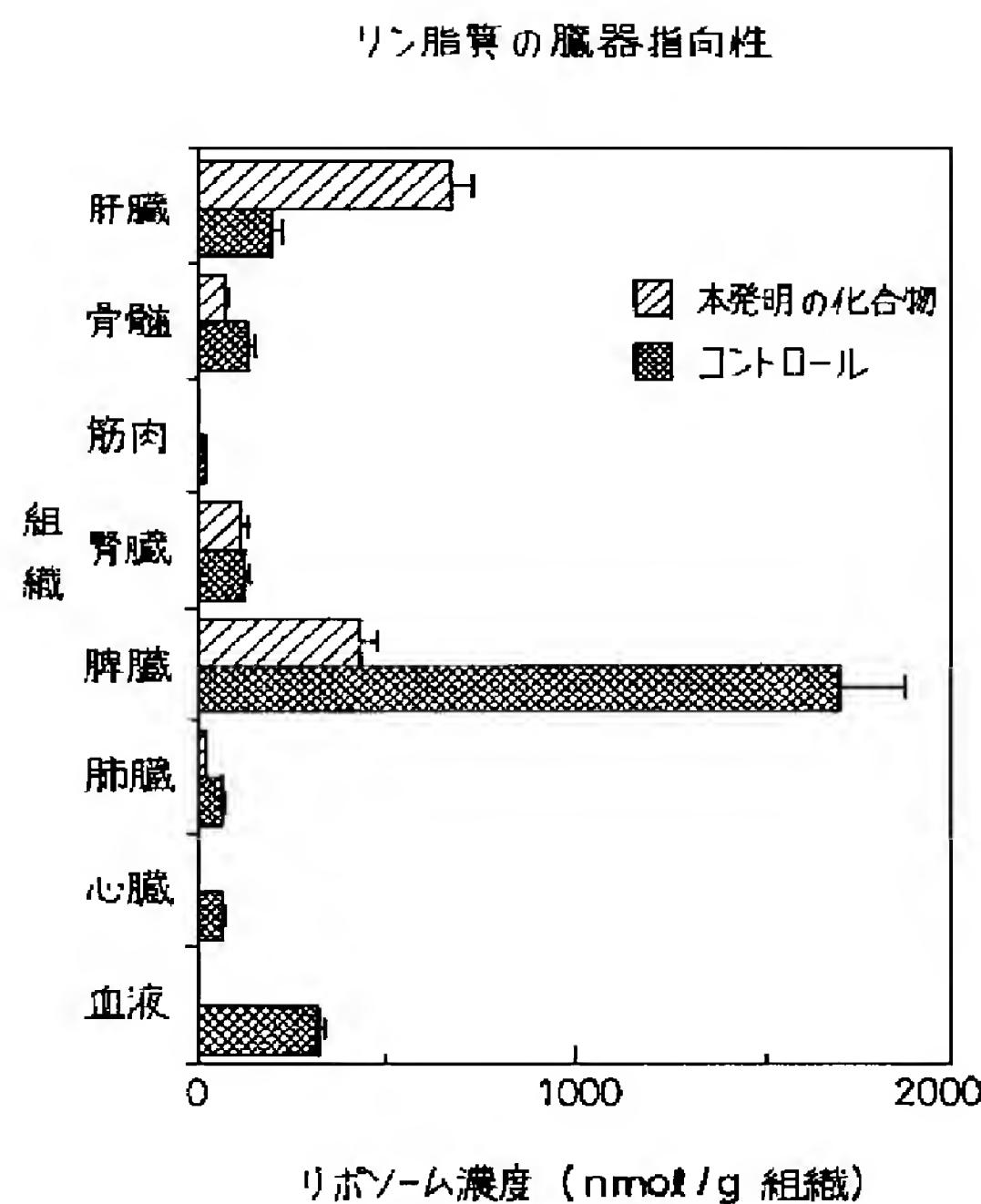
【図5】



【図6】



【図7】



フロントページの続き

(51) Int. C1. ⁵	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
C O 7 H 15/04		F		
15/12				
C O 7 J 9/00		9051-4C		